

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

BIOREMEDIJACIJA PLASTIKE POSREDOVANA
GLJIVAMA

BIOREMEDIATION OF PLASTIC BY FUNGI

SEMINARSKI RAD

Jelena Štambuk
Preddiplomski studij biologije
(Undergraduate Study of Biology)
Mentor: doc. dr. sc. Marin Ježić

Zagreb, 2018.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆENITO O RAZGRADNJI PLASTIKE GLJIVAMA.....	2
3. METODE.....	5
4. GLJIVE KOJE RAZGRAĐUJU PLASTIKU.....	7
4.1. <i>Gljive bijele truleži</i>	7
4.2. <i>Aspergillus</i>	8
4.3. <i>Penicillium</i>	9
4.4. <i>Fusarium</i>	9
4.5. <i>Pestalotiopsis microspora</i>	10
5. ZAKLJUČAK.....	11
6. LITERATURA.....	12
7. SAŽETAK.....	14
8. SUMMARY.....	14

1. UVOD

Masovna proizvodnja čini plastiku jednim od najkorištenijih materijala u današnjem društvu, no i jednim od glavnih antropogenih zagađivača okoliša. Nakon upotrebe se reciklira, spaljuje ili, najčešće, završi na odlagalištu. Gomila se ne samo na odlagalištima već i u prirodnim staništima gdje ugrožava ekosustave (npr. česti su slučajevi da životinje progutaju sitne ili veće komade plastike).

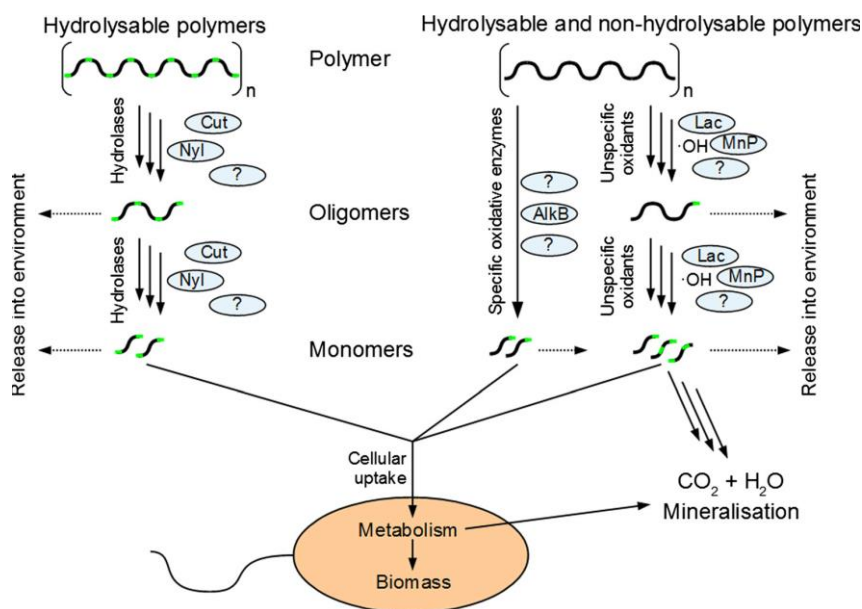
U plastiku ubrajamo sintetičke polimere kao što su polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS), polivinilklorid (PVC), polietilentereftalat (PET), polikarbonat (PC), poliester, poliuretan (PUR), najlon-6 i sl. Plastike su obično krutine te često sadrže biokemijski inertne komponente, a polimeri su im kompaktno posloženi tako da je bilokakav utjecaj mikroorganizama ili enzima ograničen na površinski sloj plastičnoga materijala. Upravo zbog tih karakteristika njihove strukture plastika se teško razgrađuje čak i u optimalnim laboratorijskim uvjetima (Krueger i sur., 2015.). Kako bi pospješili i ubrzali proces razgradnje plastike, odnosno pronašli efikasno rješenje za problem zagađenja i gomilanja plastike, potrebno je najprije detaljno istražiti kako ti procesi funkcioniraju u prirodi i koji su njihovi aspekti. Na razgradnju plastike utječu okolišni faktori kao što su visoka temperatura, svjetlost, određeni kemijski uvjeti i biološka aktivnost bakterija i gljiva (Alsherei, 2017.). Obećavajući kandidati za bioremedijaciju plastike su prirodni razlagači gljive, koje već imaju široku primjenu u bioremedijaciji različitih materijala i tvari poput boja i teških metala (Singh, 2006).

Dokazano je da neke gljive imaju sposobnost razgradnje plastike, odnosno da svojim enzimima degradiraju polimere na manje molekule koje zatim mogu unijeti u organizam te koristiti kao izvor ugljika. (Ganesh i sur., 2017.; Alsherei, 2017.; Das i Kumar, 2014.). Dosadašnja saznanja daju nadu u mogućnost rješavanja problema plastike, no potrebna su još mnogobrojna istraživanja koja bi nas približila cilju.

2. OPĆENITO O RAZGRADNJI PLASTIKE GLJIVAMA

Dosad otkrivene gljive sa sposobnošću degradacije plastike nije lako grupirati jer pripadaju raznim svojstava unutar odjeljaka Ascomycota i Basidiomycota (www.mycobank.org). Njih ne objedinjuju niti bliska srodnost niti specifične karakteristike, već niz raznovrsnih enzima koji mogu degradirati i sintetičke polimere. Polimeri se rastavljaju na manje molekule: oligomere, dimere i monomere, pomoću ekstracelularnih enzima, da bi zatim procesom mineralizacije nastali voda (H_2O) i ugljikov dioksid (CO_2) ili metan (CH_4), koje gljive koriste kao izvor ugljika i energije (Ganesh i sur., 2017.; Alsherei, 2017.; Das i Kumar, 2014.). Različite vrste gljiva imaju sposobnost degradacije različitih vrsta plastike jer proizvode različite enzime.

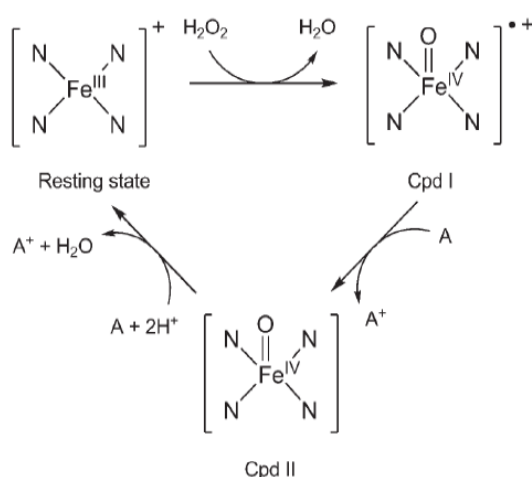
Plastiku možemo podijeliti na plastiku koja se može hidrolizirati (PUR, poliamidi, PET) i onu koja se ne može hidrolizirati (PP, PE, PS, PVC). Plastika koja se može hidrolizirati sadrži esterske ili amidne veze na koje obično djeluju ekstracelularne hidrolaze, dok druga ima jednostruke ugljikove veze koje se mogu rastaviti samo redoks reakcijama u kojima sudjeluju oksidativni enzimi poput peroksidaza, lakaza i sl. (Krueger i sur., 2015.). (Sl. 1.)



Slika 1. Razgradnja polimera enzimima (Krueger i sur., 2015.)

Oksidativna bioremedijacija je primijećena kod takozvanih gljiva bijele truleži (white rot fungi - WRF) koje izazivaju biodegradaciju lignina što drvu daje izbljedjeli izgled (Asgher i sur., 2008.). WRF su ekofiziološka grupa gljiva (Krueger, 2015.) koje većinom pripadaju odjeljku Basidiomycota, dok ih manji broj pripada odjeljku Ascomycota. Stvaraju ekstracelularne enzime koji mineraliziraju lignin (LMEs - lignin mineralizing enzymes) od kojih su glavni ligninske peroksidaze (LiP), manganove peroksidaze (MnP), lakaze i polivalentna peroksidaza (VP - versatile peroxidase). Osim što imaju kompleksni sustav i mehanizam enzima, ove gljive toleriraju široki raspon pH vrijednosti supstrata što ih čini izuzetno pogodnima za degradaciju štetnih tvari. (Asgher i sur., 2008.).

Generalni mehanizam oksidacije kod peroksidaza temelji se na prijenosu elektrona kroz više koraka. Kod LiP uključuje enzim koji sadrži željezo (Fe^{3+}) vezano za hem, koji tijekom katalize prijenosa elektrona prelazi u radikal-kation intermedijarni spoj sa željezom na koji je vezan kisik i neutralni intermedijarni spoj sa željezom na koji je vezan kisik. Željezo (Fe^{3+}) neaktivnog enzima se oksidira s H_2O_2 , nastaje prvi intermedijarni spoj koji preuzima elektron supstrata i prelazi u drugi intermedijarni spoj. Time peroksidaza oksidira lignin, plastiku ili neki drugi spoj, a sama se reducira primajući elektron od tog spoja (u porfirinski prsten). Reakcija prijelaza iz jednog intermedijarnog spoja u drugi ubrzava se pri nižim vrijednostima pH. Ponovnom redoks reakcijom dobivamo početni neaktivni enzim čime se zatvara katalitički ciklus (Aust, 1995.; Castro i sur., 2016.) (Sl. 2.).



Slika 2. Katalitički ciklus ligninske peroksidaze. Četiri dušikova atoma predstavljaju porfirinski prsten. A je elektron donor supstrat. (Castro i sur., 2016.)

Kako bi sustav funkcionirao, osim ovih osnovnih reakcija ciklusa, ponekada su potrebne dodatne reakcije koje omogućuju razlaganje plastike. Naime, neke tvari se prvo trebaju reducirati da bi se mogle oksidirati peroksidazama (Aust, 1995.). Prisutnost određenih kofaktora također može utjecati na aktivnost enzima. Ligninske peroksidaze mogu mineralizirati različite otporne aromatske spojeve. Ističu se po tome što imaju veoma visoki oksidacijski potencijal u odnosu na ostale peroksidaze, zbog čega je raspon spojeva koje mogu oksidirati veći (Aust, 1995.). Za intermedijarne spojeve pri neutralnom pH izračunat je relativni redoks potencijal od 0.48 V (Castro i sur., 2016.). Prirodni sekundarni metaboliti gljiva (3,4-dimetoksibenzol (VA - veratrilni alkohol) i 2-kloro-1,4-dimetoksibenzen poprimaju funkciju redoks posrednika kako bi stimulirali oksidaciju kataliziranu LiP; odnosno, primijećena je indirektna oksidacija pomoću radikalnog kationa veratrilnog alkohola koji ubrzava katalitički ciklus LiP. Etilendiamin tetraoctena kiselina (EDTA) i N-N-N0-N0-tetrametilendiamin (TEMED) inhibiraju LiP i sprječavaju oksidaciju VA. Inhibicija je reverzibilna samo u slučaju suviška Zn^{2+} ili drugih metalnih kationa. Oksidacija ligninskim peroksidazama također ovisi i o omjeru molarne koncentracije H_2O_2 i polimera.

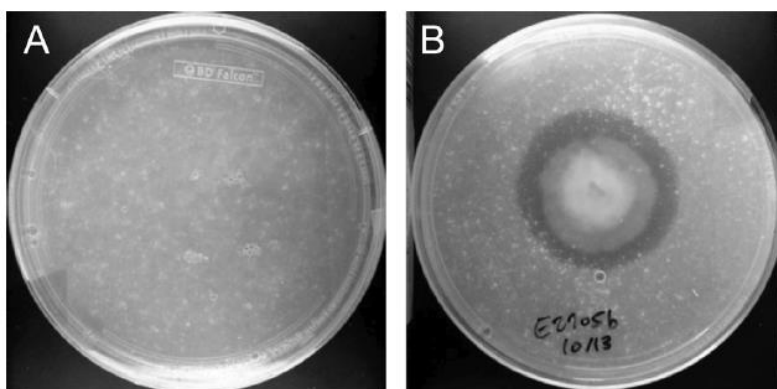
Manganove peroksidaze su ekstracelularni glikoproteini s hemom kao prostetičkom grupom. Kao kofaktor koriste Mn^{2+} koji se oksidira u Mn^{3+} te se odvaja od enzima i stvara kompleks s oksalatom. MnP inhibiraju natrijev azid, askorbinska kiselina, β -merkaptetanol i ditiotreitol. Aktivnost se pojačava u prisutnosti kooksidansa kao što su glutation, nezasićene masne kiseline i Tween 80.

Lakaze pripadaju grupi oksidaza plavog bakra. Imaju puno posrednika u oksidaciji kao što su N-hidroxiacetanilid, 3-hidroksiantranilat, siringaldehid i mnogi drugi metaboliti gljiva. Dodatak bakra, kadmija, nikala, molibdena ili mangana obično pospješuje aktivnost lakaza, dok srebro, živa, olovo, cink, natrijev azid, natrijev klorid i H_2O_2 u većini slučajeva inhibiraju enzim.

Zadnja velika grupa enzima predstavljaju peroksidaze za koje možemo reći da su strukturni hibridi između manganovih peroksidaza i ligninskih peroksidaza koji mogu oksidirati ne samo Mn^{2+} već i veratrilni alkohol, fenolne i nefenolne, te aromatske spojeve velike molekulske mase (Asgher i sur., 2008.; Aust, 1995.).

3. METODE

U dosadašnjim istraživanjima prikupljeni su uzorci sa odlagališta, iz zemlje zagađene plastikom (Singh i Gupta, 2014.; Artham i Doble, 2010.; Ganesh i sur., 2017.), uzorci drvenastih biljaka s endofitskim gljivama (Russell i sur., 2011.; Sheik i sur., 2015.) te uzorci morske vode (Alshehrei, 2017.) iz kojih su zatim izolirane čiste kulture gljiva ili su pak provedena istraživanja na gljivama za koje se već zna ili pretpostavlja da imaju sposobnost bioremedijacije plastike (Awasthi i sur., 2017.; Artham i Doble, 2010.). Izolirane gljive presađuju se na medij koji sadrži sintetički polimer kako bi se odredilo koje od njih uistinu razgrađuju plastiku, a koje ne. U medij se stavlja sintetički polimer u obliku praha što mu daje bjelkastu boju, to jest medij postaje mutan. Koristi li gljiva taj polimer za hranu i rast, medij oko kolonije će se razbistriti. Za daljnju analizu odabiru se gljive sa zonom bistrenja oko ruba kolonije, što je vizualna potvrda biodegradacije (Sl. 3.) (Alshehrei, 2017.; Singh i Gupta, 2014.; Raghavendra i sur., 2016.; Russell i sur., 2011.). Gljive se identificiraju mikroskopskim i makroskopskim pregledom morfologije te sekvenciranjem ITS regije (Artham i Doble, 2010.; Singh i Gupta, 2014.; Russell i sur., 2011.; Alshehrei, 2017.).



Slika 3. B - gljiva i zona bistrenja oko nje (Russell, 2011.)

U nekim istraživanjima plastika se podvrgava predtretmanu visokom temperaturom (Awashi i sur., 2017.; Artham i Doble, 2010.), UV-zračenjem (Raghavendra i sur., 2016.; Artham i Doble, 2010.) ili γ -zračenjem (Sheik i sur., 2015.) kako bi se pospješila razgradnja. Kako bi se objektivno utvrdio bioremedijacijski potencijal, gljive je potrebno inokulirati na supstrate kod kojih je jedini izvor ugljika plastika kao što je na primjer Impranil DLF supstrat, koji sadrži PUR suspendiran u vodi (Russell i sur., 2011.; Raghavendra i sur., 2016.).

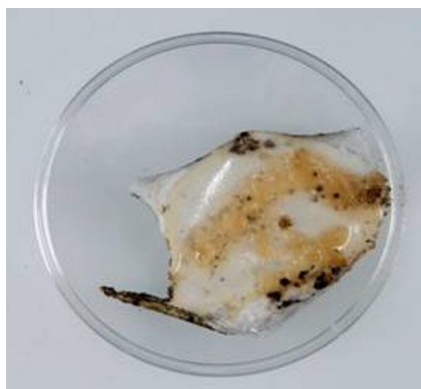
Najosnovnije metode za utvrđivanje i analizu razgradnje koje se koriste su određivanje smanjenja suhe mase plastike (Alshehrei, 2017.; Awasthi i sur., 2017.; Raghavendra i sur., 2016.; Das i Kumar, 2014.; Singh i Gupta, 2014.; Artham i Doble, 2010.) te povećanja biomase gljiva (Singh i Gupta, 2014.). Osim mjerenja porasta biomase gljive i smanjenja mase plastike možemo mjeriti i promjene molekularne mase polimera (Iiyoshi i sur., 1998.; Sheik i sur., 2015.). Često se koristi skenirajući elektronski mikroskop (SEM) za proučavanje morfoloških promjena na površini plastike kao što su mikropukotine te pričvršćenost gljive na površinu (Das i Kumar, 2014.; Alshehrei, 2017.; Awashi i sur., 2017.; Artham i Doble, 2010.; Sheik i sur., 2015.).

Za detaljnije proučavanje promjena na površinskom sloju koriste se spektroskopske metode poput energijski razlučujuće rendgenske spektrometrije, infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom i nuklearne magnetske rezonancije koje nam daju uvid u kemijske promjene polimera. Energijski razlučujuća rendgenska spektrometrija (EDS) omogućuje kemijsku analizu mjereći valnu duljinu i intenzitet distribucije signala rendgenskog zračenja (Artham i Doble, 2010.). Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) služi za detektiranje nastajanja novih funkcionalnih grupa ili promjena u broju postojećih funkcionalnih grupa te je korisna za opažanje inicijalnih degradacijskih promjena (Artham i Doble, 2010.; Umamaheswari i Murali, 2013.; Ganesh i sur., 2017.; Sheik i sur., 2015.). Još se znaju mjeriti i promjene pH, kut kontakta (Digital drop method) (Awasthi i sur., 2017.), kromatografija (Artham i Doble, 2010.) te promjene u relativnoj elongaciji i relativnoj vlačnoj čvrstoći (Iiyoshi i sur., 1998.; Raghavendra i sur., 2016.; Awasti i sur., 2017.). Relativna elongacija odnosi se na produženje materijala pod opterećenjem izraženo u postocima, a vlačna čvrstoća na pritisak mjeren prilikom loma uzorka. U metode koje se koriste za procjenu bioremedijacijskog potencijala gljiva možemo još ubrojiti i statističke analize te mjerenje korelacija između prethodno dobivenih rezultata. (Artham i Doble, 2010.)

4. GLJIVE KOJE RAZGRAĐUJU PLASTIKU

4.1. Gljive bijele truleži

Gljive bijele truleži su saprofitske gljive koje razgrađuju lignin, stoga se primarno istražuje njihova primjena u industriji papira (npr. Reid i Paice, 1994.). Za vrste *Phanerochaete chrysosporium* (sl. 4.), *Trametes versicolor* i IZU-154 dokazana je i sposobnost razgradnje plastike. *Phanerochaete chrysosporium* i *T. versicolor* pripadaju odjeljku Basidiomycota (www.mycobank.org). Sve tri mogu razgraditi polietilen (Iiyoshi i sur., 1998.) i najlon-66 (Deguchi i sur., 1997.), dok *P. chrysosporium* može i polivinil klorid (PVC) (Ali i sur., 2014.) te (bisfenol A) polikarbonat (Artham i Doble, 2010.). Iiyoshi i sur. (1998.) i Deguchi i sur. (1997.) koji spominju sve tri gore navedene gljive, ispituju razgradnju u različitim nutritivnim uvjetima, točnije uz manjak ugljika ili dušika, te učinak dodatka manganove peroksidaze. Pokazano je da je razgradnja plastike pospješena u takvim uvjetima. Na PE je najbolje djelovala IZU-154 u mediju bez glukoze, no *P. chrysosporium* i IZU-154 imali su podjednaki stupanj razgradnje PE na mediju bez amonijeva sulfata. Uočene su veće promijene molekularne mase plastike na mediju bez amonijeva sulfata u usporedbi s medijem bez glukoze. Molekularna masa (M_w) PE drastično se smanjila sa 716 kDa na 296 kDa nakon 2 dana te na 118 kDa nakon 12 dana tretmana IZU-154 na mediju bez izvora dušika. *Trametes versicolor* je dao najslabije rezultate u oba slučaja (Iiyoshi i sur., 1998.). IZU-154 je također najbolje razgrađivala najlon i to na mediju bez izvora dušika. M_w se smanjila sa 84832 Da na 5523 Da kroz 20 dana. *Phanerochaete chrysosporium* je smanjila M_w najlona na 11482 Da, a *T. versicolor* na 27108 Da u istom vremenskom periodu. M_w najlona se smanjila na 5983 Da nakon tretmana s IZU-154 u mediju bez glukoze. Iz ovih rezultata vidimo da najučinkovitiju razgradnju dobivamo s IZU-154, zatim *P. chrysosporium*, dok najslabije rezultate daje *T. versicolor* (Deguchi i sur., 1997.). *Phanerochaete chrysosporium* je uspjela razgraditi 21708 Da molekularne mase PVC-a od početnih 200 kDa unutar 7 tjedana (Ali i sur., 2014.). U drugom slučaju je razgradila 3834 Da polikarbonata unutar 12 mjeseci od prvotnih 57693 Da. (Artham i Doble, 2010.)



Slika 4. Pločica PVC-a s gljivama nakon 10 mjeseci ispod zemlje (Ali i sur., 2014.)

4.2. *Aspergillus*

U više je radova pokazano, da nakon uzimanja uzoraka iz tla ili vode zagađene plastikom, gljive roda *Aspergillus* sudjeluju u biodegradaciji plastike. Dokazano je da razgrađuju polietilen niske (LDPE) i visoke gustoće (HDPE), PVC te PUR. U većini slučajeva gljive su identificirane do razine vrsta dok su ponekad identificirane samo kao *Aspergillus* sp. *Aspergillus flavus* razgrađuje LDPE, HDPE i PUR. Za LDPE je zabilježeno od 30% smanjenja suhe mase unutar 30 dana (Singh i Gupta, 2014.), do samo 16,2% smanjenja suhe mase tijekom istog vremena (Alshehrei, 2017.). U istraživanju utjecaja *A. flavus* na HDPE zapaženo je 8,51%-tno smanjenje suhe mase nakon mjesec dana (Devi i sur., 2015.). Za PUR je zabilježeno 60,6% smanjenja mase također nakon mjesec dana razgradnje pomoću *A. flavus* (Mathur i Prasad, 2012.). Za *A. niger* je pokazana razgradnja PE, PVC i PUR. Zabilježeno je od 20% (Singh i Gupta, 2014.), 19,5% (Alshehrei, 2017.) do samo 2,94% smanjenja mase LDPE-a nakon 30 dana razgradnje. Za razgradnju PUR-a zabilježeno je 0,78%-tno smanjenje mase polimera nakon 30 dana razgradnje (Raghavendra i sur., 2016.). Ali i sur. (2014.) pokazali su uspješnost razgradnje otprilike 184 kDa molekularne mase PVC-a od početnih 200 kDa nakon 7 tjedana razgradnje pomoću *A. niger*. Za *A. japonicus* je također zabilježeno da razgrađuje LDPE, te je utvrđeno 36%-tno smanjenje suhe mase kroz 30 dana razgradnje (Singh i Gupta, 2014.). Uspješna razgradnja LDPE zabilježena je i kod *A. terreus* te je primijećeno 21,8%-tno smanjenje suhe mase LDPE nakon mjesec dana razgradnje gljivom (Alshehrei, 2017.). Za *A. fumigatus* zabilježeno je da razgrađuje LDPE i PUR. U jednom eksperimentu dokazivanja razgradnje LDPE, dobiveno je 20,5%-tno smanjenje suhe mase, dok je u drugome samo 1,77%-tno smanjenje mase LDPE nakon mjesec dana razgradnje (Alshehrei, 2017.). Za razgradnju

PUR-a pomoću *A. fumigatus* zabilježeno je 0,27% smanjenja mase plastike također nakon mjesec dana razgradnje. (Raghavendra i sur., 2016.).

4.3. *Penicillium*

Rod *Penicillium* je blisko srodan rodu *Aspergillus*; pripadaju istoj porodici *Aspergillaceae*, reda *Eurotiales* (www.mycobank.org). U radovima se vrste često navode samo kao *Penicillium* sp. Za pripadnike roda *Penicillium*, koji nisu određeni do razine vrste, zabilježeno je, unutar 30 dana, od 2,02% smanjenja suhe mase LDPE (Raghavendra i sur., 2016.), preko 24% (Singh i Gupta, 2014.) te sve do 43,4% (Alshehrei, 2017.) smanjenja mase istog. Za PUR je zapažena 0,52%-tna degradacija također nakon 30 dana (Raghavendra i sur., 2016.). *Penicillium adametzii* je uspio razgraditi 4,25% molekularne mase (M_w ; s 57693 na 55237 Da) poli bisfenol A karbonata nakon 12 mjeseci bez prethodnog tretmana (Artham i Doble, 2010.). Za *P. simplicissimum* je dokazano da razgrađuje HDPE (Yamada-onodera i sur., 2001.).

4.4. *Fusarium*

Vrste roda *Fusarium* pripadaju odjeljku *Ascomycota*, pododjeljku *Pezizomycotina*, kao i *Aspergillus* i *Penicillium* (mycobank.org). Vrste ovog roda mogu razgraditi najlon 4 (Tachibana i sur., 2010.), LDPE (Das i Kumar, 2014.; Singh i Gupta, 2014.) i PUR. Za pripadnike roda *Fusarium*, koji nisu određeni do razine vrste, zabilježeno je 32%-tno smanjenje suhe mase LDPE nakon 30 dana razgradnje, dok je u drugome eksperimentu dobiveno 9%-tno smanjenje mase i to nakon dvostruko dulje vremena. Raghavendra i sur. (2016.) su pokazali da *F. oxysporum* razgrađuje LDPE i PUR. Nakon 30 dana razgradnje uočeno je smanjenje mase polietilena za 2,79%, a PUR-a za 0,73%, nakon 60 dana 3,75%, odnosno 1,24% te nakon 90 dana 4,09%, odnosno 1,54% za navedene plastike. Za *F. graminearum* (Ganesh i sur., 2017.) nisu određeni postotci biorazgradnje, ali je utvrđeno da razgrađuje PE proizvodeći amilaze, lakaze, ligninske peroksidaze te manganove peroksidaze od kojih na PE najviše djeluju manganove peroksidaze. *Fusarium solani* i *F. moniliformae* također se spominju kao vrste koje djeluju na LDPE (Raghavendra i sur., 2016.)

4.5. *Pestalotiopsis microspora* (Russell i sur., 2011.)

Pestalotiopsis microspora je endofitska gljiva koja spada u Ascomycota za koju je dokazano da razgrađuje PUR. U Russellovom (2011.) eksperimentu gljivične kulture rasle su 2 tjedna u anionskoj, alifatskoj, PUR suspenziji u vodi kako bi se osiguralo da PUR predstavlja jedini izvor ugljika (Sl. 5.). Učinkovitost degradacije je određena smanjenjem svjetlosnog raspršivanja pri 600nm, odnosno postotkom razbistrenja. Gljivične kulture dobivene su od osam izoliranih primjeraka *P. microspora* (uz još neke druge primjerke) od kojih je troje imalo visoku aktivnost (preko 60% razbistrenja), a ostalih pet srednju aktivnost. Jedan izolat nije pokazao nikakvu bioremedijacijsku aktivnost. Ovakve razlike u degradacijskoj aktivnosti primjeraka iste vrste upućuju na gensku raznolikost među organizmima. Osim toga, dva izolata gljiva mogla su degradirati plastiku i u anaerobnim uvjetima, jednako učinkovito kao i u aerobnim uvjetima, što nije slučaj za ostale ispitane vrste gljiva. Ispitana je i aktivnost ekstracelularnih enzima te je utvrđeno da je za degradaciju PUR-a pomoću *P. microspora* odgovorna serinska hidrolaza.



Slika 5. U lijevoj tikvici medij se razbistrio zbog degradacije PUR-a, na dnu je preostala gljiva. Desno kontrola, medij s PUR. (Russell i sur., 2011.)

5. ZAKLJUČAK

Degradacijski učinak gljiva na sintetičke polimere je nedvojbeno pokazan, no i dalje je puno toga nerazjašnjeno i nedefinirano. Teško je odrediti koja bi od navedenih vrsta gljiva bila idealan modelni organizam za daljnje pokuse s ciljem rješavanja problematike plastike. Dosadašnjih pokusa je premalo da bi se precizno definirala efikasnost pojedinih vrsta gljiva na određenu plastiku. Metode utvrđivanja biodegradacijske učinkovitosti su izuzetno šarolike, a čak i kada se koriste podjednake metode, rijetko su izvođene u identičnim uvjetima, što otežava uspoređivanje degradacijske efikasnosti gljiva. Ukoliko je krajnji cilj primjena gljiva u bioremedijaciji plastike, potrebni su nam konzistentni rezultati kako bi razgradnja uvijek bila isplativa i efikasna. Usporedba među različitim svojstama pomoći će nam u otkrivanju koja je vrsta gljive najpogodnija za razgradnju određene vrste plastike. Osim toga, primijećeno je da učinkovitost biodegradacije može varirati čak i među različitim jedinkama iste vrste.

Potrebno je preispitati koji su ključni enzimi za razgradnju plastike kod određene gljive, kako funkcioniraju, te u kojim je uvjetima pospješena njihova aktivnost. Daljnja saznanja i pokusi o osnovnom funkcioniranju ovih procesa postaviti će temelje za eventualna genetička unaprjeđenja enzima te za masovnu primjenu u rješavanju viška plastike.

6. LITERATURA

- Ali M. I., Ahmed S., Robson G., Javed I., Ali N., Atiq N., Hameed A., 2014. *Journal of Basic Microbiology* **54**, 18-27.
- Alshehrei F., 2017. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **6**, 1703-1709.
- Artham T., Doble M., 2010. *Biomacromolecules* **11**, 20-28.
- Asgher M., Bhatti H. N., Ashraf M., Legge R. L., 2008. *Biodegradation* **19**, 771-783.
- Aust S. D., 1995. *Environ Health Perspect* **103**, 59-61.
- Awasthi S., Srivastava N., Singh T., Tiwary D., Mishra P. K., 2017. *3 Biotech* **7**, 73-80.
- Castro L., Crawford L., Mutengwa A., Götze J. P., Bühl M., 2016. *Organic & Biomolecular Chemistry* **14**, 2385-2389.
- Das M. P., Kumar S., 2014. *International Journal of ChemTech Research* **6**, 299-305.
- Deguchi T., Kakezawa M., Nishida T., 1997. *Applied and Environmental Microbiology* **63**, 329-331.
- Devi R. S., Kannan V. R., Nivas D., Kannan K., Chandru S., Antony A. R., 2015. *Marine Pollution Bulletin* **96**, 32-40.
- Ganesh P., Dineshraj D., Yoganathan K., 2017. *International Journal of Applied Research* **3**, 693-695.
- Iiyoshi Y., Tsutsumi Y., Nishida T., 1998. *The Japan Wood Research Society* **44**, 222-229.
- Krueger M. C., Harms H., Schlosser D., 2015. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99**, 8857–8874.
- Mathur G., Prasad R., 2012. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **167**, 1595–1602.
- Raghavendra V. B., Uzma M., Govindappa M., Vasantha R. A., Lokesh S., 2016. *International Journal of Current Research* **8**, 34753-34761.
- Reid I. D., Paice M. G., 1994. *FEMS Microbiology Reviews* **13**, 369-376.
- Russell J. R., Huang J., Anand P., Kucera K., Sandoval A. G., Dantzler K. W., Hickman D., Jee J., Kimovec F. K., Koppstein D.,

Marks D. H., Mittermiller P. A., Nunez S. J., Santiago M., Townes M. A., Vishnevetsky M., Williams N. E., M. P. N. Vargas, Boulanger L.-A., Bascom-Slack C., Strobel S. A., 2011. *Applied and Environmental Microbiology* **77**, 6076–6084.

Sheik S., Chandrashekar K. R., Swaroop K., Somashekarappa H. M., 2015. *International Biodeterioration & Biodegradation* **105**, 21-29.

Singh H., 2006. Mycoremediation : fungal bioremediation, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, pp. 470-471, 499-509.

Singh J., Gupta K. C., 2014. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* **3**, 443-448.

Tachibana K., Hashimoto K., Yoshikawa M., Okawa H., 2010. *Polymer Degradation and Stability* **95**, 912-917.

Umamaheswari S., Murali M., 2013. *Elixir Chemical Engineering* **64**, 19159-19164.

Yamada-Onodera K., Mukumoto H., Katsuyaya Y., Saiganji A., Tani Y., 2001. *Polymer Degradation and Stability* **72**, 323-327.

www.mycobank.org

7. SAŽETAK

Problem zagađenja okoliša plastikom ponukao je znanstvenike na istraživanje biodegradacije plastike te je pokazano da su neke vrste gljiva sposobne razgraditi plastiku svojim enzimima i koristiti je kao izvor ugljika. U ovome preglednom radu navedene su dosad često korištene metode utvrđivanja degradacije plastike gljivama, kao i svojte gljiva na kojima je provedeno više istraživanja ili su značajnije po svom utjecaju, odnosno često se spominju u literaturi. Za predodžbu o degradacijskoj efikasnosti pojedinih vrsta navedeni su podatci iz prethodnih radova koji nam govore o promjeni suhe mase, odnosno molekularne mase sintetičkog polimera nakon razgradnje gljivom kroz određeni vremenski period. Potrebno je nastaviti istraživati i preispitivati degradacijsku učinkovitost gljiva, detaljno preispitati aktivnosti njihovih enzima te uvjete u kojima je razgradnja pospješena, kako bi postavili temelje za primjenu gljiva u bioremedijaciji plastike.

8. SUMMARY

The problem of plastic contamination has prompted scientists to investigate the biodegradation of plastics and it has been shown that some species of fungi are capable of degrading plastic with their enzymes and using degradation compounds as source of carbon. This paper presents the most frequently used methods of determining the degradation of plastic by fungi, as well as the fungi species which have been examined for their plastic degradation potential, or are often mentioned in the relevant literature. The degradation efficiency exhibited by certain species was shown through the data from previous works, that refer to the change of the dry weight or molecular weight of the synthetic polymer after decomposition by the fungus for a certain period of time. It is necessary to continue to examine the degradation efficiency of fungi and their enzymatic activity, as well as the conditions in which the degradation can be improved to set the foundation for the application of fungi in the bioremediation of plastics.